

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 200326048

UDC _____

廈門大學

碩 士 學 位 論 文

木榄、海莲和尖瓣海莲种间亲和性和亲缘关系分析

Interspecific Compatibility and the Relationship among
Bruguiera gymnorhiza, *B. sexangula* and *B. sexangula* var.
rhynchopetala

韩闯

指导教师姓名: 杨盛昌 副教授

专 业 名 称: 细胞与发育生物学

论文提交日期: 2006-7-28

论文答辩时间: 2006-7-31

学位授予日期:

答辩委员会主席: 田惠桥

评 阅 人: _____

2006 年 7 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。

2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期： 年 月 日

导师签名：

日期： 年 月 日

目 录

中文摘要	1
Abstract	3
1 前言	5
1.1 红树林概况	5
1.2 红树林遗传多样性和亲缘关系研究	6
1.3 ISSR 分子标记和 DNA 序列分析在植物遗传多样性和系统发育中的应用	7
1.4 红树林杂交亲和性研究	9
1.5 中国木榄属红树植物研究概况	10
1.6 研究目的与意义	11
2 材料和方法	12
2.1 材料	12
2.1.1 植物材料和菌种	12
2.1.2 主要化学试剂及仪器	12
2.2 方法	13
2.2.1 木榄、海莲和尖瓣海莲花粉活力检测	13
2.2.2 木榄、海莲和尖瓣海莲种间杂交亲和性	13
2.2.3 木榄、海莲和尖瓣海莲雌蕊和花瓣相对长度(L3)的测量	13
2.2.4 木榄、海莲和尖瓣海莲叶片总DNA提取和浓度测定	13
2.2.5 木榄、海莲和尖瓣海莲基因组DNA ISSR PCR扩增	14
2.2.6 木榄、海莲和尖瓣海莲18S rRNA, matK, matR和nrDNA ITS序列分析	16
3 结果和分析	20
3.1 木榄、海莲和尖瓣海莲形态学比较	20
3.2 木榄、海莲和尖瓣海莲种间和种内亲和性研究	21
3.2.1 木榄、海莲和尖瓣海莲花粉活力检测	21
3.2.2 木榄、海莲和尖瓣海莲种间和种内的亲和性	21

3.3 木榄、海莲和尖瓣海莲在分子水平上的亲缘关系分析	23
3.3.1 基因组DNA ISSR 分析	23
3.3.2 <i>18S rRNA</i> , <i>matK</i> , <i>matR</i> 和nrDNA ITS 序列分析	25
4 讨论	35
4.1 木榄、海莲和尖瓣海莲基于形态学的比较	35
4.2 木榄、海莲和尖瓣海莲的杂交亲和性	35
4.3 ISSR分子标记	36
4.4 DNA序列比对分析	38
4.5 聚类分析的图形选择	38
4.6 种的界定和尖瓣海莲的分类地位	39
参考文献	40
致谢	50

Catalogue

Abstract in Chinese	1
Abstract in English	3
1 Introduction	5
1.1 Introduction of mangrove.....	5
1.2 Relationship and genetic polymorphism of mangrove.....	6
1.3 PCR-ISSR and DNA sequence analysis in plant genetic polymorphism and phylogenesis.....	7
1.4 Hybridizing compatibility of mangrove.....	9
1.5 Introduction of Chinese <i>Bruguiera</i> genus	10
1.6 Purpose and significance of this thesis.....	11
2 Materials and methods	12
2.1 Materials.....	12
2.2 Methods.....	13
3 Results and analysis	20
3.1 Morphologic comparison among <i>Bruguiera gymnorhiza</i> , <i>Bruguiera sexangula</i> and <i>Bruguiera sexangula</i> var. <i>rhynchopetala</i>	20
3.2 Inter- and intra-compatibility of <i>Bruguiera gymnorhiza</i> , <i>Bruguiera sexangula</i> and <i>Bruguiera sexangula</i> var. <i>rhynchopetala</i>	21
3.2.1 Pollen viability.....	21
3.2.2 Inter- and intra-compatibility.....	21
3.3 Relationship of <i>Bruguiera gymnorhiza</i> , <i>Bruguiera sexangula</i> and <i>Bruguiera</i> <i>sexangula</i> var. <i>rhynchopetala</i> on molecular level.....	23
3.3.1 PCR-ISSR of genomic DNA.....	23
3.3.2 Sequence analysis of <i>18S rRNA</i> , <i>matK</i> , <i>matR</i> and nrDNA ITS.....	25
4 Discussion	35
4.1 Similarity and differences of <i>B. gymnorhiza</i> , <i>B. sexangula</i> and <i>B. sexangula</i> var. <i>rhynchopetala</i> based on morphologic comparision.....	35
4.2 Compatibility among <i>B. gymnorhiza</i> , <i>B. sexangula</i> and <i>B. sexangula</i> var. <i>rhynchopetala</i>	35

4.3 PCR-ISSR	36
4.4 Comparison of DNA sequences	38
4.5 Selection of phylogenetic diagrams	38
4.6 Confirmation of species and propositional taxonomic position of <i>B. sexangula</i> var. <i>rhynchopetala</i>	39
References	40
Acknowledgements	50

摘要

红树科木榄属 (*Bruguiera*) 植物在中国主要有三个种, 分别是木榄 (*B. gymnorhiza*)、海莲 (*B. sexangula*) 和尖瓣海莲 (*B. sexangula* var. *rhynchopetala*)。三种红树植物在形态上差异较小, 尤其是尖瓣海莲部分形态特征与海莲相似, 部分特征接近木榄, 所以尖瓣海莲的分类地位较难确定, 在学术交往中, 一些研究者认为尖瓣海莲是海莲的变种, 另一些学者则认为尖瓣海莲是海莲和木榄的杂交种。本研究以海南东寨港红树林保护区的木榄、海莲和尖瓣海莲为对象, 以花器官形态学特征, 种间杂交亲和性, ISSR 分子标记和基因序列比对等方法对三种红树植物的遗传变异水平, 亲缘关系和尖瓣海莲的分类地位进行深入的探讨, 主要研究结果如下:

- (1) 花器官形态学比较: 对即将开放的花形态观察发现木榄花的柱头低于花瓣, 海莲花的柱头高出花瓣而尖瓣海莲花的柱头与花瓣顶端基本持平, 其相对高度分别为 1.007 ± 0.015 , 1.056 ± 0.021 和 0.847 ± 0.023 , 双尾 t 检验表明三个数据间差异极显著 ($P < 0.01$)。
- (2) 种间杂交亲和性: 用醋酸洋红染色法鉴定三种植物的花粉活力均大于 90%。人工杂交授粉后通过对花粉的萌发状况观察表明木榄、海莲和尖瓣海莲之间种间亲和性极低。
- (3) 基因组 DNA ISSR 分子标记: 从 81 条 ISSR 引物中筛选出 18 条能获得清晰多态性条带和反应稳定的引物。共扩增出 142 个条带, 其中多态性条带有 109 条, 多态百分率为 76.2%。利用 Nei 指数计算木榄—海莲, 海莲—尖瓣海莲和木榄—尖瓣海莲的遗传相似性 (GS) 分别为 0.43、0.55 和 0.50。根据 UPGMA 统计方法海莲和尖瓣海莲松散聚为一组, 木榄单独一组。
- (4) DNA 序列比对: 对木榄、海莲和尖瓣海莲的 18S 核糖体 RNA 基因 (*18S rRNA*), 线粒体 RNA 成熟酶 R (*matR*) 和叶绿体 RNA 成熟酶 K (*matK*) 基因以及核基因组内转录间隔区 (nrDNA ITS) 部分片段 (包括 ITS2 全片段序列, 5.8S RNA 和 26S RNA 部分基因片段) 克隆并测序。结果表明三种红树植物的 *matK* 基因所测片段序列完全一致; *18S rRNA* 所测片段序列有 10 个多态性位点, 多态百分率 0.58%; *matR* 所测片段序列有 9 个多态性位点, 多态百分率 0.54%, 9 个碱基变异位点中有 8 个位点引起了氨基酸的差异, 氨基酸多态百分率为 1.43%; 木榄和

海莲的 nrDNA ITS2 区序列完全一致，而同尖瓣海莲有 23 个碱基的差异，占全序列的 5.9%。比对结果采用邻接法（NJ）作图。

上述形态学，繁殖生物学和分子生物学的证据表明，三种红树植物存在着种间不亲和性且遗传相似性系数处于种间的水平。所以我们认为将尖瓣海莲作为木榄属内的一个种可能更合适。

关键词：木榄属；种间亲和性；多态性

Abstract

Bruguiera genus plants, including *B. gymnorrhiza*, *B. sexangula* and *B. sexangula* var. *rhynchopetala*, are the major mangrove species in China. The morphological traits of three mangrove species are similar and some of traits of *B. sexangula* var. *rhynchopetal* are quite similar to *B. sexangula* while others to *B. gymnorrhiza*. Some researchers suggested that *B. sexangula* var. *rhynchopetala* is a variation of *B. sexangula* while others suggested that it was a hybrid species of *B. gymnorrhiza* and *B. sexangula*. Here flower morphologic traits, manual pollination, ISSR molecular marker and comparison of DNA sequence were investigated to study the degree of genetic variation, the relationship of the three species and taxonomic position of *B. sexangula* var. *rhynchopetala*. All the work was summarized as follow:

- (1) Comparison of floral morphologic traits: The stigma was almost equal to the petal in *B. sexangula* var. *rhynchopetala*, but higher in *B. sexangula* and lower in *B. gymnorrhiza* before blossoming. The relative length of stigma to the petal is 1.007 ± 0.015 , 1.056 ± 0.021 and 0.847 ± 0.023 respectively. Two tails t-test indicated that the data were extremely notable difference.
- (2) Interspecific compatibility: Pollen viability was greater than 90% in the three species by acetocarmine stain. Few of pollen tubes could be observed in pistillary cord and reached to the ovary when *B. sexangula*, *B. gymnorrhiza* and *B. sexangula* var. *rhynchopetala* crossed with each other which suggested that the three mangrove species were interspecific incompatibility.
- (3) ISSR analysis of Genomic DNA: eighteen ISSR primers which could produce clear loci were screened from eighty one primers. Total 142 loci were amplified and 109/142(76.2%) of ISSRs were polymorphic. Nei's genetic similarity (GS) between *B. gymnorrhiza* and *B. sexangula* was 0.43, that of *B. gymnorrhiza* and *B. sexangula* var. *rhynchopetala* was 0.50 and that of *B. sexangula* and *B. sexangula* var. *rhynchopetala* was 0.55. Dendrogram based UPGMA showed clustering of *B. sexangula* and *B. sexangula* var. *rhynchopetala* into a loose group and *B. gymnorrhiza* into a single group.

- (4) Comparison of DNA sequence: the partial sequences of *18S rRNA*, *matR*, *matK* and nrDNA ITS (complete sequence of ITS2, partial sequences of *5.8S RNA* and *26S RNA*) of three mangrove species were cloned, sequenced and compared. The sequences of *matK* of three species were completely identical. The number of polymorphic sites in *18S rRNA* and *matR* was 10 (0.58%) and 9 (0.54%) respectively. As to *matR* gene, the difference of 9 bases led to the variance of 8 amino acid residues, polymorphic rate was 1.43% to total 559 amino acid residues. The ITS sequences of *B. gymnorrhiza* and *B. sexangula* were completely identical while the sequence of *B. sexangula* var. *rhynchopetala* had 23 different sites (5.9% in total sequence) comparing with *B. gymnorrhiza* and *B. sexangula*. The sequence data were analyzed by clustalx1.81. To draw phylogenetic tree based on neighbour-joining method (NJ).

The evidence of morphology, propagation biology and molecular biology indicated the GS of three mangrove species reached to interspecific degree and three mangrove species were interspecific incompatibility. So we suggested that it may be better to class *B. sexangula* var. *rhynchopetala* as an independent species in *Bruguiera* genus.

Key Words: *Bruguiera*; Interspecific Compatibility; Polymorphism.

1 前言

1.1 红树林概况

红树林是自然分布于热带、亚热带海岸潮间带的木本植物群落。全世界现有红树植物约16科, 20属, 54种^[1], Duke则认为红树植物有19科, 27属, 70余种^[2]。我国学者王伯荪认为全世界共有红树植物16科24属84种(含12个变种), 其中真红树为11科16属70种(含12变种), 半红树为5科8属14种^[3]。林鹏则认为全世界真红树植物共20科27属70种^[4]。真红树植物是指专一性生长在潮间带的木本植物, 它们只能在潮间带生长繁殖, 在陆地环境不能够正常繁殖。半红树是指既可生长在红树林中或边缘的, 同时又可在陆地生长的两栖木本植物, 但不具有胎萌、根系多样性、泌盐、高渗透压等特殊特征^[5]。在气候、土壤、海水盐度和洋流海平面温度和降雨等环境因子影响下红树林在世界范围内分两个大区大西洋—东太平洋区(又称西方群系)和印度洋—西太平洋区(又称东方群系)。东方群系红树种类丰富, 西方群系红树种类较少^[6]。我国的红树林属东方群系, 有12科15属26种^[4,7]。

红树林是热带、亚热带海岸的重要植被类型, 在海岸河口生态系统中占有重要的地位。红树林蕴藏着丰富的生物资源和物种。具有维护海岸生态平衡, 防风减灾、护堤保岸的突出的作用^[8]; 其具有的高生产率、高归还率、高分解率的“三高”特点, 为湿地内动物、微生物提供食物、营养来源以及栖息繁衍场所, 并构成复杂的食物网; 红树林的天然产品还可为人们提供各种生活用品, 如建筑材料、工业原料纸浆、食物和饲料、用于治疗白血病、肺癌、疟疾等的药物、香料、单宁等; 从遗传多样性上看, 红树林蕴藏着可以适应这种咸淡水交迭环境的丰富基因库; 如今红树林还作为景观资源和文化资源正不断受到重视; 此外, 它在环境污染检测、净化上也有广泛的应用^[9]。总之, 红树植物生态系统具有极大的生态效应和经济效益, 对沿海地区环境的保护, 经济的可持续发展发挥着重要的作用^[4]。

目前全世界共有红树林面积约 16,670,000 公顷, 其中, 南亚、东南亚以及印度尼西亚地区占了世界红树林面积的 23%^[10]。由于人口压力, 农业开垦、盐业、伐木业、海洋养殖业等的发展, 全球红树林面积在最近 50 年已减少 40-50%, 虽然不少国家已经认识到了红树林的重要性并采用科学的方法利用^[11]、保护和修复红树林, 然而由于毁林围海造田或造盐田, 毁林围塘养殖, 毁林围海搞城市建设^[12], 原油污染^[13]等原因, 许多

国家的红树林面积依然不断减少。中国现有红树林面积约 1.5 万平方公里, 约占世界红树林面积的 0.1%和亚洲的 0.24%, 自然分布于海南、广西、广东、福建、台湾等省区。中国红树林湿地直接经济价值不高, 但防浪护岸、维持海岸生物多样性和渔业资源、净化水质、美化环境等生态环境功能显著, 属于特别容易被价值低估的海岸生态关键区。1960 年代以来由于不合理的开发活动, 我国红树林面积已减少三分之二^[14]。因此, 对红树林植物资源及其生境的保护和恢复是一个全球性的任务, 通过对红树林种群遗传多样性、亲缘关系以及种间杂交亲和性研究, 可为红树林植物资源、生境的保护和恢复以及新品种的培育提供理论依据。

1.2 红树林遗传多样性和亲缘关系研究

遗传多样性也称为基因多样性, 指种内基因的变化, 包括种内不同种群间和同一种群内的遗传变异, 对于任何一个物种来说其都有自身特有的遗传信息, 甚至在不同的个体间也存在着丰富的遗传变异, 这些信息构成了生物的遗传多样性^[15]。对遗传多样性的研究有助于人们更清楚的认识生物多样性的分子基础, 为动植物的分类、进化研究提供资料, 进而为动植物育种和遗传改良提供理论基础。

目前分子水平的遗传多样性研究基于等位酶和 DNA 分子标记两个方面。等位酶作为一种基因的直接产物因其具有稳定、简便、迅速等优点而被广泛用作遗传标记^[16]。迄今为止, 应用等位酶技术研究遗传变异已积累了丰富的资料。尽管目前可分析的基因座位超过 100 个, 然而酶电泳只能检测编码酶蛋白的基因位点且所检测的位点数目通常只有 20 至 30 个, 这对整个基因组来说仅占很小的部分, 因此酶电泳可能会低估遗传变异水平^[17]。随着分子生物学技术的发展尤其是 PCR 技术的广泛应用, 出现了多种基于 DNA 水平的新的遗传多样性研究手段。如 DNA 限制性酶切片段长度多态性(RFLP)^[18], 随机扩增片段多态性(RAPD)^[19]、扩增片段长度多态性(AFLP)^[20]、简单重复间序列(ISSR)^[21]、简单重复序列(SSRs)^[22]和 DNA 序列比对。

由于红树植物所处的生境极为特殊和并具有重要的生态功能, 国内外学者对其形态解剖、生理、生态、群落结构及分子系统学等方面做了大量的工作, 但其遗传多样性和遗传结构的研究起步较晚且相对于其他类型的植物较为缺乏。近年来, 随着分子生物学技术的快速发展, 很多分子技术被用于红树植物种群遗传学研究。例如等位酶标记已广

泛应用于红树植物居群间的遗传结构分析^[23,24]，遗传多样性分析如白骨壤 (*Avicennia marina*)^[25,26,27]，木榄^[28]，红海榄(*Rhizophora stylosa*)^[27]，秋茄(*Kandelia candel*)^[29]，榄李 (*Lumnitzera racemosa*)^[27]，海桑 (*Sonneratia caseolaris*)，桐花树 (*Aegiceras corniculatum*)^[30,31]以及环境因素对红树植物遗传分化的影响，葛菁萍等应用等位酶标记技术研究了盐度变化对秋茄种群遗传分化的影响，证明了盐浓度对秋茄种群遗传分化的影响不大^[32]。

除等位酶外，RAPD，AFLP，RFLP，ISSR，SSRs 等 DNA 分子标记以及 DNA 序列比对也被广泛应用于红树植物遗传信息的研究。周涵韬，林鹏采用 RAPD 分子标记技术分析了红树 (*Rhizophora apiculata*)、红海榄、秋茄、角果木 (*Ceriops tagal*)、木榄、海莲、尖瓣海莲等 7 种红树科植物的遗传多样性和亲缘关系^[33]。Mukherjee AK 等用 RAPD 和 AFLP 分析红树科 9 种真红树和两种假红树的遗传关系，证明了研究对象在分子水平上的分类关系和传统形态学分类除了相比除了木榄属内分类和红海榄在红树科的分类地位外两种分类结果在属种间是一致的^[34]。Lakshmi M 采用 RAPD 和 RFLP 分析了印度东西海岸 7 个种群的海漆 (*Excoecaria agallocha*) 种内遗传分化，显示了海漆种群内具有较高的遗传分化水平^[35]。Maguire TL 用 AFLPs 和 SSRs 分析了澳大利亚白骨壤种群的遗传分化水平，结果表明 SSRs 相对于 AFLPs 能检测到更多的群体间(19% vs 9%)和亚种间(35% vs 11%)遗传分化^[36]。

1.5 ISSR 分子标记和 DNA 序列分析在植物遗传多样性和系统发育中的应用

ISSR (Inter simple sequence repeat) 是 Zietkiewicz 等于 1994 年最早采用的一种新型分子标记技术其基本原理是利用包含简单重复序列并在 3'或 5'锚定的寡聚核苷酸引物，对微卫星之间的 DNA 序列进行 PCR 扩增^[21]。ISSR 标记技术具有操作简单，快捷，重复性好，多态性水平高等特点，而且不要求预知基因序列信息，大大减少了多态性分析的预备工作。ISSR 分子标记运行程序与 SSRs 和 RAPD 类似，但由于有更长的引物序列和较高的退火温度，因此其稳定性和重复性好^[37]。目前 ISSR 已应用于玉米^[38]、小麦^[39,40]、葡萄^[41]、柑橘^[42]、水稻^[43]和马铃薯^[44]等许多作物的品种鉴定、系统分类、遗传多样性检测、基因定位和遗传图谱构建等研究。

ISSR 分子标记用于红树植物种群遗传信息的研究报道较少, 仅见桐花树^[31]、海漆^[45,46]、海桑^[47-50]、木榄^[51]等。

DNA 序列直接反映物种的基因型, 含有极为丰富的信息。依据DNA 序列上的差异来比较植物的亲缘和演化关系, 可以为植物系统与演化研究提供最直接的证据。随着PCR 和DNA 测序技术的产生、发展以及人们对植物基因组了解的日益加深, DNA 测序正发展并成为比较分子数据的一个主要手段, 为研究植物系统发育提供了一个十分重要的技术手段^[51,52]。目前分子系统发育和进化研究中一些常用的DNA 序列包括核基因组 (nrDNA) 的18S *rRNA* 基因^[53]及ITS^[54,55]等非编码区; 叶绿体基因组 (cpDNA) 的编码基因*rbcL*^[56-67]、*matK*^[68]、*ndhF*^[69-75]和*atpB*^[75,76] 及非编码区序列 *rpL16*^[78,79]、*rps16*^[80,81,82]、*rpoCl*^[83]、*atpB-rbcL*^[84-90]、*trnC-rpoB*^[91]、*psbA-trnH*^[92]、*accD-rbcL*^[93]、*trnL-F*^[94-97]和*trnT-L*^[79,98]; 线粒体基因组 (mtDNA) 的19S *rDNA*^[99]、*cox3*^[100,101,102]、*nad5*^[103]和*matR* 基因^[104,105,106]。研究表明, 18S *rRNA*、*rbcL* 等编码基因及mtDNA 一般适用于较高分类阶元甚至整个种子植物谱系间的系统发育的探讨, 而ITS 及cpDNA 的非编码区序列等因其较快的进化速率多用于较低分类阶元的系统关系研究。

matK基因: *matK*基因位于叶绿体*trnK*基因的内含子中, 长约1550bp, 编码一种参与RNA 转录体中II 型内含子剪切的成熟酶^[107], 是叶绿体基因组的蛋白编码区中碱基变化最快的基因之一^[108]。*matK*序列分析为研究类群内部的系统重建提供了较多的信息^[68,109]。在某些类群中, *matK*序列的核苷酸变化也为种间和种内的系统研究提供了一定的价值^[110,111]。

matR: *matR*基因位于线粒体基因组内, 大约1.7kb, 编码一种与RNA成熟酶相关的蛋白^[112]。由于*matR*基因具有高度的保守性, 所以一般用来分析科或具有科以上分类地位类群的系统关系。然而孟少武等^[104]在用*matR*基因序列差异分析三白叶草的系统发育时找到了44个碱基变化位点, 其中30个为有义突变, 这些变化位点能够很好的区分三白叶草科属的甚至是种的亲缘关系, 这说明了*matR*的基因序列对于重建属和科的系统发育也是有价值的。

18S *rRNA*: 18S *rRNA*基因位于真核生物基因中, 编码核糖体小亚基的18S *rRNA*, 其序列长约1850bp^[113]。18S *rRNA*基因序列对于被子植物内科及科以上的系统发育研究可提供较多的信息, 其序列变异程度尤其适于探讨被子植物乃至种子植物内部的深度系统

发育分支间的关系。同时, 由于在不同类群间序列的变异程度有所差异, *18S rRNA*有时也可用于亚科或属间关系的重建, 如檀香目及其它寄生植物, 其*18S rRNA*基因的进化速率明显快于在其它被子植物中的速度^[114,115]。

nrDNA ITS: 高等植物核糖体DNA (nrDNA) 内转录间隔区 (internal transcribed spacer, ITS) 包括5.8S *RNA*基因和两个间隔序列片段(ITS-1和ITS-2)是具有多拷贝的简单重复序列。由于其高度重复性(每个细胞中的拷贝数目在1000-10000之间)^[116]并通过不等交换和基因转换使得ITS拷贝间的序列趋于相近或完全一致, 所以核糖体rDNA的ITS区序列已成为系统学中研究低等级分类群系统发育的有效工具, 并已成为分子进化的重要标记, 广泛应用于分子生物学研究^[117]。应用ITS序列对红树林系统发育和亲缘关系的研究已见报道。黄椰林等测定和分析了红树(Rhizophoraceae) 5属6种植物的rDNA ITS 区序列, 所构建的ITS 区分子系统树图表明红树科植物可形成1 个单系的类群, 但在部分属种ITS 序列分析的结果与红树科传统的分类系统有所不同^[55]。钟扬等基于红树科6属10种及外类群的cpDNA, *matK*基因和*rbcL*基因序列以及nrDNA ITS区序列, 分别构建了分子系统发育树, 对不同系统发育树中有关分支间的核苷酸序列置换速率进行了差异显著性检验^[118]。

DNA序列比对分析应用于红树植物系统发育和亲缘关系的研究较少。Chiang等通过叶绿体DNA的*atpB-rbcL*间隔区、*trnL-trnF*间隔区以及线粒体ITS区序列对秋茄的东亚种群进行了植物系统地理学研究, 构建的邻接树明显分为与其地理区域相应的两个分支: 一支由北部南中国海和东部南中国海的种群构成, 南部南中国海种群则构成另一分支。AMOVA分析表明中国大陆与台湾的种群分化不明显, 表明该种的胎生繁殖体在海洋中可能具有显著的长距离传播能力^[119]。Yamazaki 等对泰国、马来西亚、印度尼西亚、密克罗尼西亚以及日本南部的木榄种群一共84个个体的叶绿体DNA *trnL-trnF*间隔区进行序列测定, 仅检测到4种单倍型, 并指出这些地区内的热带洋流、瓶颈效应以及历史上冰川时期海平面的下降可能导致了该种特殊的遗传结构^[102,121]。

1.4 红树林杂交亲和性研究

花粉落在柱头上能否正常萌发并导致受精, 取决于双方的亲和性。当近缘杂交时, 双方亲和性高, 花粉就能在柱头上正常萌发; 而当远缘杂交时, 双方亲和性低, 花粉就

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库